

## SINTESIS DAN KARAKTERISASI BIOKOMPOSIT BCP/KOLAGEN SEBAGAI MATERIAL PERANCAH TULANG

### *Synthesis and Characterization of Biocomposite BCP/Collagen for Bone Material Scaffold*

Anjarsari<sup>1\*</sup>, Kiagus Dahlan<sup>1</sup>, Pipih Suptijah<sup>2</sup>, Tetty Kemala<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jl. Meranti, Gedung FMIPA. Wing S Lantai 2 Kampus IPB Darmaga Bogor 16680, Telp. (0251) 8625728

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jalan Agatis, Gedung FPIK, Kampus IPB Dramaga Bogor 16680, Telp. (0251) 8622915, Faks. (0251) 8622916

<sup>3</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Gedung Kimia Wing 1 Lantai 3 Jl. Tanjung Kampus IPB Darmaga Bogor 16680, Telp./Faks: (0251) 8624567

\*Korespondensi: [malanm28@yahoo.com](mailto:malanm28@yahoo.com)

Diterima: 08 September 2016/ Review: 19 November 2016/ Disetujui: 26 Desember 2016

**Cara sitasi:** Anjarsari, Dahlan K, Suptijah P, Kemala T. 2016. Sintesis dan karakterisasi biokomposit bcp/ kolagen sebagai material perancah tulang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3): 356-361.

#### Abstrak

*Biphasic calcium phosphate* (BCP) sering digunakan sebagai implan dan perancah pada aplikasi ortopedik atau gigi. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan sintesis dan karakteristik dari biokomposit BCP/kolagen sebagai material perancah tulang. BCP/kolagen dikelompokkan menjadi tiga, yaitu 1) BCP/K5 (kolagen 5% dalam perancah), 2) BCP/K10 (kolagen 10% dalam perancah), dan 3) BCP/K15 (kolagen 15% dalam perancah). Sampel dikarakterisasi dengan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), dan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Secara keseluruhan, perbedaan konsentrasi kolagen tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap spektrum gugus fungsi, namun analisis FTIR menunjukkan perubahan intensitas pada biokomposit BCP/kolagen. Intensitas kolagen meningkat seiring dengan meningkatnya kolagen pada perancah, sedangkan intensitas BCP menurun pada konsentrasi kolagen yang tinggi. Analisis morfologi pada perancah memperlihatkan perbedaan yang nyata pada pembentukan pori. BCP/K15 memperlihatkan pori yang terbentuk pada perancah. Sintesis biokomposit BCP/kolagen tidak mempengaruhi spektrum gugus fungsi, namun mempengaruhi pembentukan pori pada material perancah tulang.

Kata kunci: *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP), hidroksiapatit,  $\beta$ -Tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP), kolagen, perancah tulang

#### Abstract

*Biphasic calcium phosphate* (BCP) widely used as implants and scaffolds in different orthopedic and dental application. The aim of this study was to determine synthesis and characteristics of biocomposite BCP/collagen as bone scaffold material. BCP/collagen was classified into three groups: 1) BCP/K5 (5% collagen in scaffold), 2) BCP/K10 (10% collagen in scaffold), and 3) BCP/K15 (15% collagen in scaffold). The samples were characterized by *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Spectroscopy, and *Scanning Electron Microscope* (SEM) techniques. Overall, concentration of collagen was not significantly different to the spectrum. However, FTIR analysis shows the change intensity in bio-composite BCP/collagen. Collagen intensity Higher concentration when collagen concentration in scaffold higher. Morphology analysis of the scaffold showed significant differences in pore formation. BCP/K15 was showed pores formed in scaffold. Synthesis of composite BCP/collagen does not affect the spectrum of functional groups, but affects the formation of pores in the bone scaffold material.

Keywords : *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP), hidroksiapatit,  $\beta$ -Tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP), collagen, bone scaffold

## PENDAHULUAN

Cacat tulang, contoh patah tulang akibat kecelakaan, penyakit seperti osteo-degeneratif, tumor, dan keropos merupakan kerusakan yang terjadi pada tulang. Kerusakan pada tulang dapat diatasi dengan autograft. Autograft merupakan pengganti tulang dengan cara pemasangan implan yang berasal dari bagian tubuh diri sendiri, tetapi autograft memiliki keterbatasan diantaranya resiko infeksi luka, potensi morbiditas dan pengadaan yang terbatas. Keterbatasan autograft dapat diatasi dengan allograft, yaitu implan tulang yang berasal dari tubuh orang lain, tetapi memiliki resiko penularan penyakit pada tubuh. Keterbatasan pengganti tulang autograft dan allograft menyebabkan perkembangan pengganti tulang sintesis banyak dikembangkan (Lieshout *et al.* 2011). Pengganti tulang merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi cacat tulang.

Sebagai pengganti tulang, implan harus mempunyai sifat antara lain; *non-toxic*, bioaktif, *bioresorbable*, *biocompatible*, *bioinert*, dan osteokonduktif. *Non-toxic* yaitu tidak bersifat racun terhadap tubuh. Bioaktif yaitu terjadinya interaksi antara implan dan tubuh. *Bioresorbable* adalah sifat mampu diserap pada jaringan biologis. *Biocompatible* adalah kemampuan untuk menyesuaikan dengan tubuh. *Bioinert* merupakan biomaterial yang tidak berpengaruh atau tidak terdapat interaksi antara implan dan tubuh. Osteokonduktif yaitu kemampuan untuk merangsang sel-sel osteoblas pada jaringan keras (Hench 1991). Implan tubuh mempunyai satu atau lebih dari sifat-sifat tersebut.

Biomaterial digunakan sebagai material dasar yang digunakan untuk kepentingan medis, salah satunya sebagai implan. Implan bertujuan untuk memperbaiki, memelihara atau mengganti bagian tulang yang rusak akibat terkena penyakit, kecelakaan atau trauma. Jenis-jenis biomaterial antara lain biokeramik, biopolimer, biokomposit, dan biologam (Anwar dan Solechan 2014) yang dapat digunakan untuk meningkatkan fungsi tubuh (Kim 2015). Masing-masing jenis biomaterial mempunyai sifat yang berbeda sesuai dengan fungsi atau kegunaannya. Jenis biokeramik misalnya *hydroxyapatite* (HA) dan

dan *Tri-Calcium Phosphate* (TCP), banyak diaplikasikan pada tulang sebagai implan.

HA dapat dihasilkan dari material biologi misalnya karang, kerang laut (Gergely *et al.* 2010), cangkang telur (Dahlan 2012) dan material biologi lainnya, dengan metode kimia maupun fisika. HA mempunyai rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  atau  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ . HA banyak digunakan untuk material implan, karena sifatnya yang *biocompatible*, *bioresorbable*, osteokonduktif (Jokanovi *et al.* 2008), *non-toxic*, dan bioaktif (Fathi *et al.* 2008). Ketika diaplikasikan pada jaringan biologi, HA tidak menyebabkan komplikasi seperti pendarahan atau infeksi. Menurut Gergely *et al.* (2010), HA bersifat biokatif yang akan mendukung pertumbuhan tulang dan osteokonduktif ketika diaplikasikan pada ortopedik seperti gigi atau rahang. HA dapat dijadikan alternatif sebagai material implan tulang, karena adanya ikatan osteoblas yang akan membentuk jaringan tulang yang baru.

*Tri-Calcium Phosphate* (TCP) dengan rumus kimia  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , merupakan salah satu keramik bioaktif kalsium fosfat yang sering digunakan untuk implan tulang atau gigi, karena bersifat *resorbable* (Hench 1991). TCP mempunyai beberapa bentuk *polymorphic* antara lain  $\alpha$ -TCP,  $\beta$ -TCP,  $\gamma$ -TCP,  $\alpha'$ -TCP.  $\beta$ -TCP lebih banyak digunakan karena memiliki kestabilan kimia, kekuatan mekanik yang tinggi serta *bioresorbable* yang lebih baik (Miao *et al.* 2005).  $\beta$ -TCP mempunyai keunggulan yang lebih baik dari TCP bentuk *polymorphic* lain. Material ini telah diaplikasikan secara luas dalam bidang ortopedi (rekonstruksi tulang) dan aplikasi dental meliputi augmentasi alveolar, elevasi sinus dan rekonstruksi sinus (Zhao *et al.* 2014).

Meraldo (2016) menyatakan bahwa biopolimer didefinisikan sebagai polimer yang dibuat dari sumber biologi, misalnya mikroorganisme, alga atau tumbuhan. Biopolimer yang paling sederhana adalah selulosa dan pati biopolimer banyak dikembangkan di dunia medis, produksi makanan, dan obat-obatan. Biopolimer dapat disintesis dengan metode kimia dan fisika, sesuai dengan jenis polimernya. Kolagen adalah salah satu jenis biopolimer.

Ada banyak jenis kolagen yang terdapat pada hewan, salah satunya adalah kolagen tipe I. Kolagen tipe I, merupakan salah satu protein struktural yang banyak terdapat di jaringan keras, salah satunya adalah tulang ( $\pm 38\%$  dari komposisi tulang), dan merupakan mediator fungsi sel osteoblas (Lee *et al.* 2015). Kolagen banyak diaplikasikan sebagai biomaterial karena mempunyai sifat biodegradasi, biokompatibel, dan dapat membantu pembentukan pori pada perancah (Chen *et al.* 2012). Kolagen baik digunakan sebagai implan tulang karena dapat mempercepat proses penyembuhan tulang maupun sebagai pemeliharaan tulang.

Biokomposit merupakan campuran dari dua atau material yang berbeda, baik berasal dari makhluk hidup atau bahan yang dapat diperbaharui, dan mempunyai sifat berbeda dari sebelumnya. Biokomposit umumnya terdiri dari dua unsur. Unsur yang berfungsi sebagai pengisi (*fillers*) yaitu serat (*fiber*) dan bahan pengikat serat-serat tersebut yang disebut matriks. Biokomposit dapat berupa gabungan diantara dua atau lebih biomaterial.

Gabungan biokeramik (HA dan  $\beta$ -TCP), dengan biopolimer (kolagen tipe I), akan menghasilkan biokomposit yang dapat digunakan sebagai perancah. HA dan  $\beta$ -TCP sebagai *fiber*, dan kolagen sebagai matrix. *Hydroxyapatite* (HA) mempunyai sifat resorbabilitas yang sangat rendah, sedangkan  $\beta$ -TCP mempunyai sifat resorbabilitas yang sangat tinggi.  $\beta$ -TCP lebih cepat larut dalam sistem biologi. Gabungan HA dan  $\beta$ -TCP dapat mengatur laju degradasi yang tepat untuk pembentukan tulang baru (Lee *et al.* 2015). Gabungan HA dan  $\beta$ -TCP dikenal dengan *Biphasic Calcium Phosphate* (BCP). Tingkat degradasi BCP dapat dikontrol dengan membandingkan komposisi pencampuran HA:  $\beta$ -TCP. Menurut Teixeira *et al.* (2008), material BCP dapat menyebabkan pertumbuhan sel, proliferasi sel dan perkembangan sel. Proses biologi yang terjadi setelah implamasi keramik BCP adalah proses difusi larutan, yang diikuti dengan kolonisasi sel.

Tulang membutuhkan lebih banyak kalsium untuk pertumbuhan. HA dengan jumlah yang lebih tinggi, akan memberikan

stabilitas penyembuhan tulang. Menurut Lim *et al.* (2015), perbandingan HA dan  $\beta$ -TCP 70:30, memiliki kualitas perancah yang baik karena sifat osteokonduktif sesuai dengan kondisi tulang alami. Kolagen tipe I tidak hanya sebagai mediator pertumbuhan osteoblas, tetapi juga dapat meningkatkan sifat mekanik perancah (Li *et al.* 2014). Penelitian bertujuan untuk menjelaskan sintesis dan karakteristik dari biokomposit BCP/kolagen sebagai material perancah tulang.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

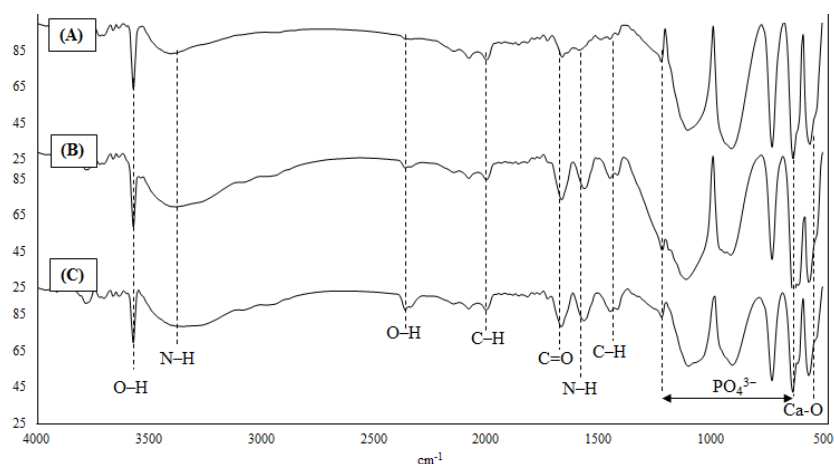
Bahan yang digunakan adalah cangkang telur ayam ras, hidroksiapatit (HA),  $\beta$ -tri kalsium fosfat ( $\beta$ -TCP), pro analisis kolagen (Merck), akuades. Peralatan yang digunakan diantaranya *furnace Nuberthem*, *freeze dryer*, *Fourier Transform Infrared Spectrophotometer* (FTIR), *Scanning Electron Microscope* (SEM).

### Metode Penelitian

Sintesis biokomposit BCP dilakukan dengan mencampurkan hidroksiapatit dan  $\beta$ -tri kalsium fosfat dengan perbandingan 70:30 dalam akuades dan di-sintering pada suhu 110°C (Lim *et al.* 2015). Hidroksiapatit dan  $\beta$ -tri kalsium disintesis dari cangkang telur, dengan suhu sintering masing-masing 900°C dan 1000°C. BCP kemudian dicampurkan dengan kolagen perbandingan 95/5, 90/10, 85/15 dalam larutan asam asetat 2%. BCP dan kolagen diaduk dengan kecepatan 500 rpm selama 2 jam, kemudian di-*freeze drying* dalam suhu -50°C selama 26 jam. Sampel dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada sampel, dan uji *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui struktur morfologi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 merupakan spektra analisis FTIR hasil sintesis biokomposit BCP/kolagen pada daerah serapan 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ , dengan kode sampel BCP/K5, BCP/K10, BCP/K15 perbandingan BCP/kolagen masing-masing 95/5, 90/10, dan 85/15. Informasi gugus fungsi dan bilangan gelombang dijelaskan pada Tabel 1.



Gambar 1 Sektra FTIR Biokomposit BCP/kolagen; (A) BCP/K5, (B) BCP/K10, (C) BCP/K15

Gugus fungsi yang ada pada sampel mengacu pada buku Stuart 2004. Gugus fungsi O-H dengan *vibrasi stretching*, terlihat pada daerah serapan sekitar  $3572\text{ cm}^{-1}$  dan  $2361\text{ cm}^{-1}$ . Gugus fungsi N-H (bending) yang ada pada amida sekunder bertumpuk dengan gugus fungsi milik O-H, sehingga pada spektra FTIR terlihat lebih lebar pada masing-masing sampel pada daerah serapan sekitar  $3402\text{ cm}^{-1}$  dan  $1659\text{ cm}^{-1}$ . Gugus fungsi C-N dengan *vibrasi stretching* pada amida sekunder, dan C-H (bending) muncul pada daerah serapan masing-masing  $1659\text{ cm}^{-1}$ ,  $1558\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1442\text{ cm}^{-1}$ . Gugus fungsi O-H, N-H, C-H dan N-H, diindikasikan sebagai kolagen yang terdapat pada masing-masing sampel (Liu *et al.* 2007). Hasil sintesis biokomposit BCP/kolagen menunjukkan bahwa, gugus fungsi masing-masing perancah mengalami penurunan nilai transmitansi, artinya nilai absorbansi meningkat. Meningkatnya nilai absorbansi seiring dengan meningkatnya persentase kolagen dalam perancah.

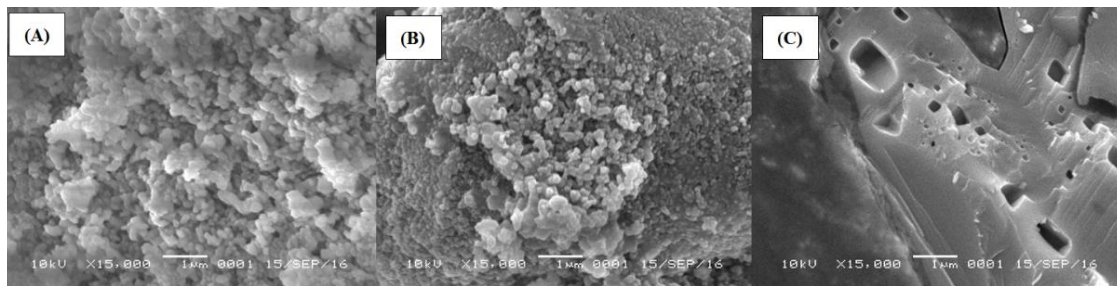
Daerah serapan sekitar  $1111\text{ cm}^{-1}$  dan  $633\text{ cm}^{-1}$  diindikasikan sebagai gugus fungsi O-P-O dengan *vibrasi stretching*, dan gugus fungsi gugus fungsi C=O dengan *vibrasi stretching* muncul pada daerah serapan sekitar  $1219\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan gugus fungsi Ca-O muncul pada daerah serapan sekitar  $571\text{ cm}^{-1}$ . Menurut Xie (2016) gugus fungsi O-P-O, C-O, dan Ca-O diindikasikan sebagai bipasik kalsium fosfat (HA dan  $\beta$ -TCP). Beda halnya dengan gugus fungsi yang ada pada kolagen, gugus fungsi pada BCP mengalami penurunan nilai absorbansi. Hasil sintesis biokomposit BCP/kolagen menunjukkan, meningkatnya konsentrasi kolagen pada perancah, meningkatkan nilai absorbansi gugus fungsi yang terdapat pada kolagen, namun menurunkan nilai absorbansi gugus fungsi yang ada pada BCP.

Sintesis biokomposit BCP/kolagen, tidak menunjukkan perbedaan spektrum yang nyata antara 95/5, 90/10, 85/15, artinya sintesis biokomposit BCP/kolagen terjadi secara fisika. Gugus fungsi yang hadir pada

Tabel 1 Gugus Fungsi dan Bilangan Gelombang Analisis FTIR

| Gugus fungsi | Puncak serapan ( $\text{cm}^{-1}$ ) |                |                | Vibrasi           |
|--------------|-------------------------------------|----------------|----------------|-------------------|
|              | BCP/K5                              | BCP/K10        | BCP/15         |                   |
| O-H          | 3572, 2361                          | 3572, 2361     | 3572, 2361     | <i>Stretching</i> |
| N-H          | 3410, 1659                          | 3379, 1659     | 3348, 1666     | <i>Stretching</i> |
| C-N          | 1558                                | 1558           | 1566           | <i>stretching</i> |
| C-H          | 1442                                | 1443           | 1443           | <i>bending</i>    |
| C=O          | 1219                                | 1211           | 1219           | <i>Stretching</i> |
| O-P-O        | 1111, 633, 910                      | 1111, 633, 910 | 1103, 633, 903 | <i>Stretching</i> |
| Ca-O         | 571                                 | 563            | 563            | <i>Stretching</i> |





Gambar 2 Morfologi biokomposit BCP/kolagen pembesaran 15.000x; (A) BCP/K5, (B) BCP/K10, (C) BCP/K15

biokomposit BCP/kolagen hanya berbeda pada nilai presentasi transmitansinya saja. Sintesis biokomposit BCP/kolagen memiliki gugus fungsi yang sama untuk perancah tulang baik dengan konsentrasi 95/5, 90/10 maupun 85/15.

Analisis morfologi biokomposit BCP/Kolagen dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan pembesaran 15.000 kali. Analisis morfologi dilakukan untuk mengetahui pembentukan pori pada sintesis biokomposit BCP/Kolagen dengan variasi konsentrasi yang berbeda. Hasil analisis morfologi SEM dapat dilihat pada Gambar 2.

Perbedaan morfologi yang ditunjukkan pada hasil SEM tampak nyata, hal ini ditunjukkan pada pembentukan pori yang berbeda pada masing-masing sampel. Gambar 2A, biokomposit BCP/K5 tidak tampak adanya pori. Tidak terbentuknya pori karena konsentrasi kolagen yang sangat rendah, yaitu 5%. Gambar 2B dengan konsentrasi kolagen 10%, terlihat adanya pori, namun ukuran pori pada perancah ini sangat kecil dan dengan jumlah yang sedikit. Gambar 2C dengan konsentrasi kolagen 15% dalam perancah, tampak nyata pembentukan pori dengan ukuran yang besar dan jumlah yang sangat banyak.

Konsentrasi kolagen yang bertambah dalam perancah, meningkatkan pembentukan pori sehingga menyediakan ruang untuk sel osteoblas yang berfungsi sebagai pembentukan tulang baru (Lee *et al.* 2015). Sintesis biokomposit BCP/kolagen dengan perbandingan 85/15, efektif untuk membentuk pori pada perancah.

## KESIMPULAN

Gugus fungsi yang terdapat pada kolagen menunjukkan penurunan nilai persentase transisi atau persentase absorbansi meningkat. Gugus fungsi yang terdapat pada kolagen meningkat karena konsentrasi kolagen yang meningkat pada perancah. Gugus fungsi O-P-O, C=O, dan Ca-O yang terdapat pada bipasik kalsium fosfat mengalami peningkatan persentase transmitansi seiring dengan meningkatnya kolagen pada perancah. Biokomposit BCP/kolagen 85/15 terlihat adanya pembentukan pori. Pori dalam perancah sebagai ruang untuk pertumbuhan sel osteoblas yang berfungsi sebagai pembentukan tulang baru. Biokomposit BCP/kolagen tidak mengalami perubahan gugus fungsi, tetapi mempengaruhi pembentukan pori pada material perancah tulang seiring dengan meningkatnya kolagen pada proses sintesis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar SA, Solechan. 2014. Analisa karakteristik dan sifat mekanik Scaffold rekonstruksi mandibula dari material bhipasis *calcium phosphate* dengan penguat cangkang kerang *srumping* dan gelatin menggunakan metode *functionally graded material*. Di dalam: Anwar S, Solechan, editor. Prosiding SNATIF Ke -1. Universitas Muria Kudus: Fakultas Teknik: 137- 144.
- Balazsi C, Kover Z, Horvath E, Nemeth C, Kasztovszky Z, Kurunczi S, Weber F. 2007. Examination of calcium-phosphate prepared from eggshell. *Material science Forum* 537-538:105-112.

- Chen Q, Bruyneel A, Clarke K, Carr C, Czernuska J. 2012. Collagen-based Scaffolds for potential application of heart valve tissue engineering. *J Tissue Sci Eng* S:11.
- Dahlan K, Dewi SU, Nurlaila A, Soejoko D. 2012. Synthesis and characterization of calcium phosphate/chitosan composite. *International Journal of Basic and Applied Sciences* 12(1):50-51.
- Fathi MH, Hanifi A, Mortazavi V. 2008. Preparation dan bioactivity evaluation of bond-like hydroxyapatite nanopowder. *J Materials Processing Technology* 202:536-42.
- Gergely G, Wéber F, Lukács I, Illés L, Attila L, Tóth, Z, Horváth, Mihály J. 2010. Nano-Hydroxyapatite Preparation from Biogenic Raw Materials. *Cent. Eur. J. Chem* 8(2): 375–381.
- Hench, L. 1991. Bioceramics: From concept to clinic. *J Am. Ceram. Soc* 74 (7) 1487-510.
- Kim DH, Hwang KH, Lee JD, Park HC, Yoon SY. 2015. Long and short range order structural analysis of in-situ formed biphasic calcium phosphates. *Biomaterials Research* 19:14.
- Lee MH, You C, Kim KH. 2015. Combined effect of a microporous layer and type I collagen coating on a biphasic calcium phosphate Scaffold for bone tissue engineering. *Materials* 8: 1150-1161.
- Li W, Pastrama ML, Ding Y, Zheng K, Hellmich C, Boccaccini A. 2014. Ultrasonic elasticity determination of 45S5 bioglass-based Scaffolds: influence of polymer coating and crosslinking treatment. *J Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 40: 85- 94.
- Lieshout E, Kralingen G, El-Massoudi Y, Weinans H, Patka P. 2011. Microstructure and biomechanical characteristics of bone substitutes for trauma and orthopaedic surgery. *BMC Musculoskeletal Disorders* 12:34.
- Lim HC, Zhang ML, Lee JS, Jung UW, Choi SH. 2015. Effect of different hydroxyapatite: b-tricalcium phosphate ratios on the osteoconductivity of biphasic calcium phosphate in the rabbit sinus model. *Int J Oral Maxillofac Implants* 30(1):65-72.
- Liu HY, Li D, Guo, SH. 2007. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Chemistry* (101): 621–625.
- Meraldo A. 2016. Introduction to Bio-Based Polymers. Lux Research. *Plastics Design Library*: 47–52.
- Miao X, Lim WK, Huang X, Chen Y. 2005. Preparation and characterization of interpenetrating phased TCP/HA/PLGA composites. *Materials Letters* 59 (29-300): 4000-4005.
- Mitra AE, Mehran SH, Farzadi A, Osman NA. 2014. Artificial neural network approach to estimate the composition of chemically synthesized biphasic calcium phosphate powders. *Ceramics International* 40: 12439–12448.
- Nuzulia NA. 2014. Synthesis of Chicken Eggshells-Based  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Bioceramics and Their Biocompatibility Test as A Tooth Filler [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ramli RA, Adnan R, Bakar MA, Masudi SM. 2011. Synthesis and characterisation of pure nanoporous hydroxyapatite. *Journal of Physical Science* 22(1): 25–37.
- Teixeira S, Oliveira S, Ferraz M, Monteiro F. 2008. Three dimensional macroporous calcium phosphate Scaffolds for bone tissue engineering. *Key Engineering Materials* 361-363: 947-950.
- Xie L, Yu H, Deng Y, Yang W, Liao L, Xie QLL, Yu H, Deng Y, Yang W, Lia L, Long Q. 2016. Preparation, characterization and in vitro dissolution behavior of porous biphasic A/B-tricalcium phosphate bioceramics. *Materials Science and Engineering* 59: 1007–1015.
- Zhao X, He J, Zhang J, Wang X, Wang W. 2014. The effect of magnetic field on electromically deposited calcium phosphate/collagen coating. *Bio-Medical Materials Engineering* 24: 1851-1859.